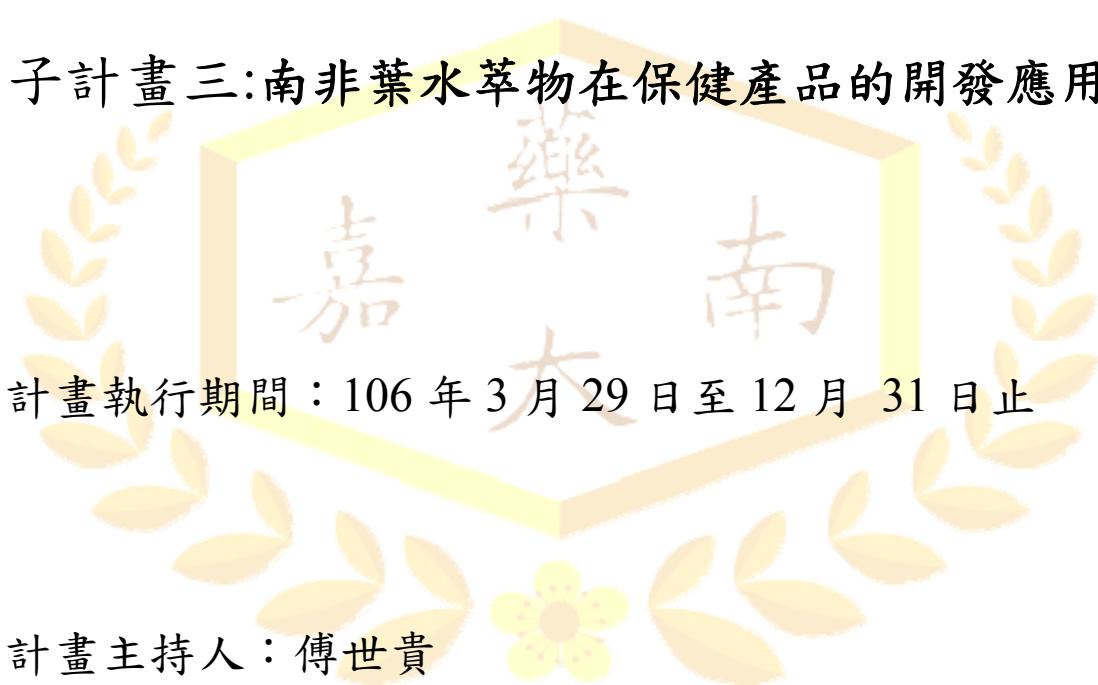


嘉南藥理大學

106 年度教師研究補助計畫成果報告

子計畫三：南非葉水萃物在保健產品的開發應用



計畫主持人：傅世貴

計畫參與人：

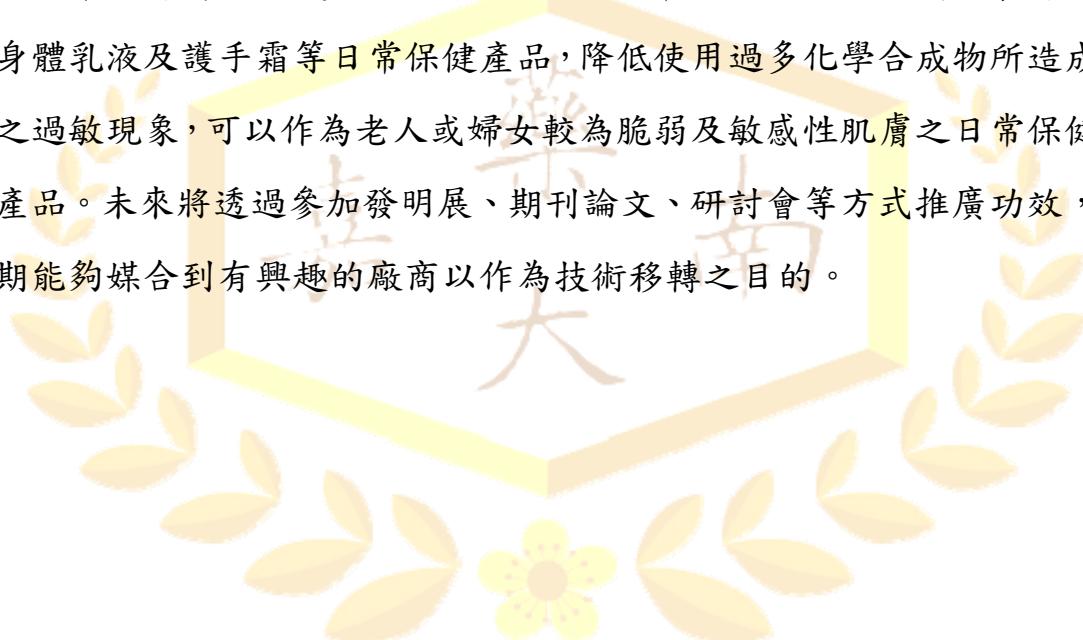
嘉南藥理科技大學生活應用與保健系 B0313019 生活三乙	莊家欣
嘉南藥理科技大學生活應用與保健系 B0313023 生活三乙	潘怡婷
嘉南藥理科技大學生活應用與保健系 B0313032 生活三乙	葉儀君
嘉南藥理科技大學生活應用與保健系 B0313097 生活三乙	彭宏銘
嘉南藥理科技大學生活應用與保健系 B0313042 生活三乙	鐘臣澤

執行單位：生活應用與保健系

一、研究計畫內容

(一)摘要

本計畫的目的是針對坊間常用之的草藥或植物進行保健產品之開發，在計畫中擬將已被引進台灣一段時間的桃葉斑鳩菊(俗稱南非葉)，利用它所具有的抗發炎(沈可信，2016)、抗氧化(Farombi 和 Owoeye，2011)的功效外，其水萃外敷劑甚至具有的抑制消除腫瘤(Howard, Stevens, and Izevbogie et al. 2003)之功效，桃葉斑鳩菊水萃物在抗發炎甚至外敷預防上顯現出極大的潛力。本研究將桃葉斑鳩菊蒸餾水萃物作為主要成分，以具抗發炎、抗氧化之天然植物開發製作成身體乳液及護手霜等日常保健產品，降低使用過多化學合成物所造成之過敏現象，可以作為老人或婦女較為脆弱及敏感性肌膚之日常保健產品。未來將透過參加發明展、期刊論文、研討會等方式推廣功效，期能夠媒合到有興趣的廠商以作為技術移轉之目的。



英文摘要

The possibility of using Bitter Leaf (*Vernonia amygdalina* Delile) to make a daily care product, such as hand care lotion and body lotion. “Bitter leaf” (*Vernonia amygdalina* Delile) was an herb brought and planted in Taiwan more than half a century, and used as daily care herb for many illness such as skin inflammation, cold, high blood pressure, and tumors. There are dozens studies revealed Bitter Leaf water extract has a great potential of anti-oxidation and inflammation alleviation ability. In this study, we will try to assess and discover the possibility of using Bitter Leaf to make a daily care product, such as hand care lotion and body lotion.



(二)研究動機與研究問題

本人近幾年來致力於本土草藥植物保健產品開發利用，分別於2012~2015年獲得校內計畫10.5萬元、104年嘉藥產業鏈結試量產產學補助計畫9萬元，以及104年度經濟部補助南部區域大專院校藥粧食品與觀光休閒之產學合作及創新創業計畫10萬元，分別完成芳香保健組產品研發、嘉藥芳療養生禮盒、芳香保濕純露隨身噴霧機補充包開發設計並發表在2013-2016嘉南藥理大學核心產品展、新產品發表媒合會(經濟部2012.6.21台南生活美學館)等。並獲得奇香妙草股份有限公司以及植享家股份有限公司等認同合作完成三件產學合作案共二十六萬元。並分別在2014及2015年獲得勞動部就業學程計畫補助共一百五十萬元，得以將在研發上的能量運用在教學實務方面。本計畫擬將南非葉水萃物開發成護手霜產品的基礎研究，來進一步從事應用實務研究，期盼能夠將研究成果技轉廠商帶動產業價值與利益。

本計畫擬將分成三大部分，分別是(1)南非葉的水萃條件研究；(2)護手霜配方研究；以及(3)產品包裝設計研究。分別討論如下：

(1)南非葉的水萃條件研究：因為本計畫所欲探討的產品護手霜是水相成分佔絕大百分比的水溶液，所以有關南非葉的萃取最適當的方式就是以水溶液型態存在的水萃方式最為適合，所以在本階段會以比較直接水萃、蒸餾水萃等不同方式，能夠萃出較多量的有效性成分為主要考量，其次再來評估其顏色、氣味等特性是否適合用於護手霜的製作來考量何種水萃物來造本次研究產品。

分別就之前的基礎研究數據與問卷意見回饋來改善護手霜配

方包括劑型設計以及包裝設計，並從護手霜基礎上開發同系列適用於全身塗抹的乳液，並分別完成 100 條產品的生產製造的原料。

(2) 護手霜配方研究：護手霜主要成分包括水、水萃物、油、香料、乳化劑、增稠劑、安定劑和抗氧化劑等。為了設計一個溫和、環境友善之產品，本設計主要考量的方向將以天然、有機的植物萃取物來替代石油化學產品的乳化劑、增稠劑等原料；以天然精油、小麥胚芽油等來取代人工香料和抗氧化劑等；其次以複方不同草藥萃取、浸泡油來增強南非葉在製作成護手霜時的功效性。

(3) 產品包裝設計研究：無論是多優秀的產品，賣不出去的產品就無法創造出它的價值，所以在本部分將由市調決定護手霜的包裝形式、香型、包裝的設計等。

本計畫最後將小批量試量產護手霜含包裝 100 條，包裝上註明由學校研究經費提供、本系技術研究製造，以作為後續產品試用與滿意度調查。

(三)文獻回顧與探討

南非葉中文學名叫桃葉斑鳩菊(*Vernonia amygdalina* Delile)，據傳這種植物最早自南非被引進台灣，因為當地土著用以治療包括皮膚炎、肝病、高血壓等多種疾病，所以又被稱為南非國寶茶；因這種植物被大量引進世界各地栽種，所以在南美洲又被稱為巴西國寶，又因為葉子味道極苦所以在西方又有一個暱稱叫做苦葉樹(bitter leaf)，在台灣這種植物因為常被用作降血壓、保肝等保健藥草所以甚至被客家族群列為客家四寶之一。桃葉斑鳩菊中藥藥性性味苦寒，據推測歸心、肺、肝、膽數經，具有清熱解毒、消腫止痛、祛風止癢的功效。根據調查在台灣民間桃葉斑鳩菊被用來治療肺炎、咽喉腫痛、咽乾喉癢、肝炎、胃腸炎、胃出血、痔瘡腫痛、風濕神經痛、跌打腫痛、腰骨痠痛、目赤眼痛、高血壓、糖尿病、高血脂等症狀(臺灣藥用植物資源名錄 行政院衛生署中醫藥委員彙編 民國 92 年)。

而在學術性的研究方面，從抗氧化能力到癌症預防都有。周邦彥(2015)使用更快和更環保的超臨界流體二氣化碳 (SC-CO₂) 法以研究提取桃葉斑鳩菊得到的癌抑制化合物。從萃取物 SC-CO₂ 萃取的最佳條件為 40 兆帕，50°C，60 分鐘的操作，並在最大收率為 1.908 %。從桃葉斑鳩菊提取物的清除自由基的活性，還原力、ABTS 和 DPPH 測定具有優異的抗氧化能力。桃葉斑鳩菊提取物能有效抑制肝癌細胞 (SKHEP-1) 和結腸癌細胞 (HCT116) 細胞在體外實驗的生存率。SKHEP-1 的 IC₅₀ 為 $332.6167 \pm 4.07 \mu\text{g/ml}$ ，HCT116 的 IC₅₀ 為 $559.5 \pm 42.5 \mu\text{g/ml}$ 。因此他證實桃葉斑鳩菊通過超臨界 CO₂ 萃取方式抑制某些如大腸癌等人類癌症有潛在能力。

賴彥廷(2017)與沈可信(2016)等以甲醇提取扁桃斑鳩菊來其探討

甲醇萃物對人類肺腺癌細胞株 A549 細胞自噬與細胞凋亡之機制，沈可信的研究認為扁桃斑鳩菊提取物是藉由其對肺臟細胞抗發炎的機制來達成對人類肺癌細胞 A549 之化學預防功效。而何美儀(2016)探討肝臟上皮細胞癌 (Hep 3B) 在扁桃斑鳩菊萃取物作用下的抗癌效果及其作用機制。先用 MTT assay 初選出對肝癌細胞 (Hep 3B) 藥效較佳的萃取方式，結果從 MTT 分析得知，VA 抑制 Hep 3B 的增殖，呈時間和劑量依賴性。接著流式細胞儀分析測試，在 Hep 3B 細胞中發現這種生長抑制的作用機制涉及細胞內特異性的 G1 / S 期的細胞週期停滯，進一步利用 Propidium iodide 和 Annexin-V 進行雙染實驗，證實 VA 會使 Hep 3B 細胞產生壞死。她的研究證實 VA 確實有抗癌之功效，未來可望進一步發展成抗癌藥物。

洪榭駿 (2016)研究 42 種 包含南非葉在內的民間用藥植物，其中 29 種以 50% 乙醇溶液浸出，萃取其粗萃物為有效性成分，和另外 13 種植物，以自行設計的水蒸餾套組萃取其精油及純露，物種包含荊芥、黃柏、大黃、野筍、牛公刺、丁豎朽、防風、黃鵲菜、蛇床子、白花蜈蚣、苦蔘、水丁香、兔兒菜、蘭嶼羅漢松、小葉羅漢松、紫背草、廣藿香、水黃皮、苦棟、啤酒花、菟絲子、過山香葉、九尾草、南非葉、紫色小檗葉、非洲白蔘、左手香、芳香萬壽菊，東哥阿里物、麻豆文旦、紅柚、白柚、牛樟木、小葉樟，月桃(種子與塊莖)、白千層、橘子、檸檬、澳洲茶樹、香茅、甜肉桂、薑黃等共 42 種植物，透過紙錠擴散抑菌圈試驗、最低抑菌濃度、最低殺菌濃度等 in vitro 測試的方式，測試各萃取物與精油(或純露)，對皮屑芽孢菌(BCRC 22243)的抑菌能力，以利日後做為抗皮屑芽孢菌的產品原料來源。紙錠擴散抑菌圈測試，證實包括南非葉在內的 14 個物種在抑菌圈測試

後的結果具有高度抑菌活性。依 MBC 複配濃度調製洗髮精，在 In vivo 抗頭皮屑試驗，五位受測者頭皮於連續四天後，總體皮屑改善程度為 38.02%。

Farombi 和 Owoeye (2011) 研究發現桃葉斑鳩菊萃取物中的有效物質包括 皂苷(saponins)和植物鹼、萜類、類固醇、香豆素(coumarins)、類黃酮(flavonoids)、倍半萜內酯(sesquiterpenes)、植物酚酸(phenolic acids)、木脂素(lignans)、山酮素(xanthones)、和一些雜環類化合物 anthraquinones, edotides 等，這些生植成分分別說明了桃葉斑鳩菊具有抗氧化、消炎以及腫瘤預防抑止等功效。

學者(Howard, Stevens, and Izevbogie et al. 2003)調查發現，同樣是黑色人種，在撒哈拉以南者的乳腺癌發病率明顯低於在美國的黑人，除了月經初潮晚、絕經期早、哺乳期長等因素，另外一個因素就是前者日常生活中經常食用桃葉斑鳩菊。當地民眾除了應用桃葉斑鳩菊水煎劑，還以桃葉斑鳩菊研磨的藥粉等製成品治療包括乳癌在內的腫瘤。桃葉斑鳩菊也可用於其他腫瘤的治療。尼日利亞學者報導了應用桃葉斑鳩菊治療 2 例癌症患者，他們都是將桃葉斑鳩菊加入等量沸水中煎煮取汁，或者將乾燥的桃葉斑鳩菊研粉。第一例患者在其明確前列腺癌的診斷後開始口服桃葉斑鳩菊 9 個月，患者尿流量增加，排尿疼痛降低。在 9 個月後，前列腺癌細胞消失。第二例患者是伴有糖尿病的皮膚癌患者，口服桃葉斑鳩菊 3 個月，並用桃葉斑鳩菊粉末於皮膚癌局部外敷，在 3 個月後腫瘤的減少了 10% ~15%。由這些研究案例發現桃葉斑鳩菊水萃物在抗發炎甚至外敷消除腫瘤等預防上顯現出極大的潛力。

(四)研究方法及步驟

本計畫分成三大部分，分別是(1)南非葉的水萃條件研究；(2)護手霜配方研究；以及(3)產品包裝設計研究。分別討論如下：

(1) 南非葉的水萃條件研究：因為本計畫所欲探討的產品護手霜是水相成分佔絕大百分比的水溶液，所以有關南非葉的萃取最適當的方式就是以水溶液型態存在的水萃方式最為適合，所以在本階段會以比較直接水萃、蒸餾水萃等不同方式，能夠萃出較多量的有效性成分為主要考量，其次再來評估其顏色、氣味等特性是否適合用於護手霜的製作來考量何種水萃物來造本次研究產品。

500 克 /2000mL	30 分鐘	1 小時	2 小時
直接萃取	總固形物 g	總固形物 g	總固形物 g
蒸餾萃取	總固形物 g	總固形物 g	總固形物 g

(2) 護手霜配方研究：護手霜主要成分包括水、水萃物、油、香料、乳化劑、增稠劑、安定劑和抗氧化劑等。為了設計一個溫和、環境友善之產品，本設計主要考量的方向將以天然、有機的植物萃取物來替代石油化學產品的乳化劑、增稠劑等原料；以天然精油、小麥胚芽油等來取代人工香料和抗氧化劑等；其次以複方不同草藥萃取、浸泡油來增強南非葉在製作成護手霜時的功效性。

基本配方為：

水萃物 A: 28.45%

水萃物 B: 28.45%

純水: 28.45%

浸泡油: 8.54%

總乳化劑: 2.85%

精油: 2.56%

其他成分: 1.00%

(3) 產品包裝設計研究：在本部分將由市調決定護手霜的包裝形式、香型、包裝的設計等。本計畫最後將小批量試量產護手霜含包裝 100 條，包裝上註明由學校研究經費提供、本系技術研究製造，以作為後續產品試用與滿意度調查。本部分所著重在參加國內外化妝品、保健產品相關的發明展或是設計展，加強產品的曝光機會，將產品介紹給具有生產能量的廠商，以達到技術轉移的目的。

(五) 研究成果

在本研究中已經完成了南非葉(1)水萃條件試驗(2)水萃物抗氧化能力測定(3)護手霜劑型配方設計(4)小批量 100 條產品試量產製造等基礎工作。

(1) 水萃條件試驗



水萃物 A



水萃物 B



水萃物 C



蒸餾萃取

南





蒸餾水萃物置備



直接萃取



複方草本浸泡油製作

南大嘉示



複方草本浸泡油



護手霜配方研製



護手霜配方研製



護手霜配方研製



包裝設計



正面



包裝設計背面



包裝設計側面



產品呈現





南非葉(桃葉斑鳩菊植物)

桃葉斑鳩菊在水萃物抗氧化能力測定換算成總黃酮含量（相當於 cinnamic acid) 1.99 ± 0.53 g/g D.W. , DPPH(系統濃度為 10 mg /g D.W.) , 自由基清除能力都有 90 %以上。

而在護手霜產品試用問卷調查在整體產品滿意度、香氣殘留等都有 4.6/5.0 與 4.5/5.0 的不錯成績。

(六)參考文獻

1. 洪榭駿 2016/12 藥用植物萃取與抗頭皮屑功能性研究
Evaluation of herbal extracts for anti-dandruff activity 嘉南藥理大學 化妝品應用與管理系所 碩士論文
2. 臺灣藥用植物資源名錄 行政院衛生署中醫藥委員會 2003
3. 周邦彥 2015 南非葉萃取物對於人類癌細胞的增殖抑制效果
Inhibition of human cancer proliferation by the extracts of *Vernonia amygdalina* 國立臺北科技大學 碩士論文
4. 賴彥廷 2017/7 探討扁桃斑鳩菊甲醇萃取物對人類肺腺癌細胞株 A549 細胞自噬與細胞凋亡之機制 Autophagy and Apoptosis Effects of Methanol Extract from *Vernonia amygdalina* on Human Lung Adenocarcinoma Cell Line A549 國立宜蘭大學 碩士論文
5. 沈可信 2016 探討扁桃斑鳩菊萃取物對人類肺癌細胞 A549 之化學預防功效 The Chemopreventive Effect of *Vernonia amygdalina* Extract on Human Lung Cancer Cell A549 國立宜蘭大學 碩士論文
6. 何美儀 2016/7 扁桃斑鳩菊萃取物誘導肝癌細胞凋亡及抑制癌細胞轉移之研究 *Vernonia amygdalina* extracts induce apoptosis and inhibit EMT in human hepatocellular carcinoma cells 國立中興大學 碩士論文
7. Farombi, E O. 和 Owoeye, O. Anti-oxidative and Chemo-preventive Properties of *Vernonia amygdalina* and *Garcinia bi-flavonoid*, Int. J. Environ. Res. Public Health, 2011, 8, 2533-2555
8. Howard CB, Stevens J, Izevbegie EB, et al. Time and dose-de-pendent modulation of phase 1 and phase 2 gene expression in response to treatment of MCF-7 cells with a natural anti-cancer

- agent. *Cell Mol Biol*(Noisy-le-grand) , 2003 , 49(7) : 1057-1065 .
9. 江燕 2010 抗癌植物扁桃斑鳩菊化學成分的研究 · 南寧：廣西大學， Jiang Y. Studies on the chemical compositions of *Vernonia amygdalina*, Nanning:Master Thesis of Guangxi University, 2010 ·
10. Grubben, GH , Debton, OA. 2004, Vegetables plant resources of tropical Africa : Wageningen : Backhuys Publishers , 2004 : 543—546 ·
11. Sani, AA , Alemika, ET , Abdulraheem, RO , et al. A study review of documented phyto-chemistry of *Vernonia amygdalina* (family asteraceae) as the basis for pharmacologic activity of plant extract. *Journal of Natural Sciences Research* , 2012(7) : 1-8.
12. Kupchan, SM , Hemingway, RJ , Karim, A , et al. Tumor inhibitors. XLVII. *Vernodalin* and *vernomygdin* , two new cytotoxic sesqui-terpene lactones from *Vernonia amygdalina* . *J Org Chem*, 1969 , 34(12) : 3908—3911 ·
13. Jisaka, M , Ohigashi, H , Takegawa, K , et al. Anti-tumoral and antimicrobial activities of bitter sesqui-terpene lactones of *Vernonia amygdalina* , a possible medicinal plant used by wild chimpanzees. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1993 , 57(5) : 833—834 ·
14. Obaseiki, EE , Odukoya, K , Telikepalli, H , et al. Anti-mutagenic activity of extracts of leaves of four common edible vegetable plants in Nigeria (west Africa. *Mutat Res*, 1993 , 302 (2) : 109-117 ·
15. Tadesse, A , Gebre-Hiwot, A , Asres, K , et al. The in vitro activity of *Vernonia amygdalina* on *Leishmania aethiopica*. *Ethiop Med J*, 1993 , 31(3) : 183—189 ·
16. Atawodi, SE , Maduagwu, EN , Preussmann, R , et al. Preformed

- volatile nitrosamines in some Nigerian foodstuffs. Food Chem Toxicol, 1993 , 31(11) : 853-855 .
17. Uhegbu, FO Dietary secondary amines and liver hepatoma in Port Harcourt, Nigeria. Plant Foods Hum Nutr, 1997 , 51(3) : 257-63 .
18. Izevbogie, EB. Discovery of water-soluble anticancer agents (edotides) from a vegetable found in Benin City , Nigeria. Exp Biol Med (Maywood) 2003 , 228(3) : 293-298 .
19. Izevbogie, EB , Bryant, JL , Walker, A. A novel natural inhibitor of extracellular signal regulated kinases and human breast cancer cell growth. Exp Biol Med(Maywood) , 2004 , 229(2) : 163-169 .
20. Opata, MM,Izevbogie, EB. Aqueous *Vernonia amygdalina* extracts alter MCF-7 cell membrane permeability and efflux. Int J Environ Res Public Health , 2006 , 3(2) : 174—179 .